Aus dem Physiologischen Institut der Universität Würzburg.
(Vorstand: Prof. Dr. E. Wöhlisch).

# Über eine Apparatur zur Messung sehr schwacher Strömungsdoppelbrechung, insbesondere bei Fibrinogen.

Inaugural-Dissertation
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Dr. phil. August Dierkesmann
aus Iserlohn in Westfalen.

1938

Druckerei und Verlag wissenschaftl. Werke Konrad Triltsch, Würzburg

Dekan: Professor Dr. H. Groll.

Referent: Professor Dr. E. Wöhlisch.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

# I. Einleitung.

Das Problem der Eiweißstruktur ist außerordentlich verwickelt. Eine Reihe von experimentellen Untersuchungen besonders an Eierklar, Ovomucoid, Ovoglobulin und Ovalbumin von G. Boehm und R. Signer (1), ferner am Myosin von A. L. v. Muralt und J. T. Edsall (2) haben Schlüsse auf die Struktur zugelassen. An Fibrinogenlösungen haben die Strömungsdoppelbrechung (im folgenden abgekürzt Str. D. Br.) Wöhlisch und Clamann (3) und G. Boehm (4) zuerst unabhängig voneinander festgestellt. Die Arbeit von Boehm enthält bereits quantitative Angaben. Unter besonderer Berücksichtigung des Fibrinogens wurden von Wöhlisch und seinen Mitarbeitern mehrere Arbeiten veröffentlicht, welche sich auf die physikochemischen Eigenschaften der Eiweißkörper beziehen. Wöhlisch und Belonoschkin (5) untersuchten die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Gans-Effekt (Depolarisation des Tyndalllichtes), Str. D. Br. und Teilchengestalt des Proteinmoleküls. Wöhlisch und Kiesgen (6) brachten zum ersten Mal den Nachweis anomaler Viskosität am Fibrinogen bei Variation des Drucks. Im Zusammenhang mit dieser Arbeitsrichtung soll die vorliegende Abhandlung dazu dienen, das Problem der Fibrinogenstruktur auf der Basis der Str. D. Br. weiter zu fördern, indem zunächst eine Apparatur beschrieben wird, die gestattet, sehr geringe Doppelbrechung bei Strömung zu messen. Mehrere Messungsergebnisse werden mitgeteilt, ferner die Brauchbarkeit der Apparatur für systematische Untersuchungen klargestellt.

Die bisher vorliegenden Messungen an Kolloiden lassen erkennen, daß man sich mit äußerst empfindlichen Methoden nicht an das Problem der Str. D. Br. herangemacht hat. Bei den Substanzen, welche verhältnismäßig große Werte der Doppelbrechung ergeben, wurden viele Messungen schon durchgeführt, nachdem die Bedeutung der Str. D. Br. für die Erkennung und die Theorie der Ultrastruktur kolloi-

daler Substanzen bekannt geworden war. Beim Fibrinogen liegen die Verhältnisse insofern komplizierter, als die meisten Lösungen eine geringe Str.D. Br. zeigen. Es besitzen die bisherigen Messungen am Fibrinogen nur orientierende Bedeutung. G. Boehm benutzte eine Apparatur mit geringer Meßgenauigkeit, indem er die Verschiebung der Talbot'schen Streifen in einem Handspektroskop maß. Boehm hat einen Meßfehler von 1,6° angegeben, wenn man die Phasendifferenz einer Wellenlänge $\lambda$ als 360° ansetzt. Die gemessenen Werte der Gangunterschiede lagen zwischen 10° und 16°, d. h. die Unterschiede der 4 Meßzahlen waren praktisch an der Fehlergrenze. Bei der geringsten von ihm festgestellten Phasendifferenz von ca. 1/30 $\lambda$ wäre also eine Fehlergröße von ca. 16% gegeben, wenn man nur den Fehler der optischen Methode ins Auge faßt. R. Signer machte seine Messungen mit Hilfe einer Halbschattenmethode in Verbindung mit dem Meßverfahren von Senarmont. Mit dieser Anordnung war es möglich, mit einem Fehler von ca. $3 \cdot 10^{-4}$ $\lambda$ zu messen. Eine ähnliche Genauigkeit hatte die Apparatur von A. L. v. Muralt und J. T. Edsall. Die in der vorliegenden Arbeit benutzte Methode von Szivessy und Dierkesmann (7) (8) gestattet bei Verwendung einer sehr guten Apparatur Phasendifferenzen im Werte von $1.10^{-4}$ bis $5.10^{-5}$ $\lambda$ mit einer Genauigkeit von ca. 1% zu messen. Bevor hierauf eingegangen werden soll, mag vorerst der mechanische Teil der Meßanordnung beschrieben werden.

## II. Experimenteller Teil.

### A. Die Apparatur.

1. Der mechanische Teil. Zur Erzielung einer gleichmäßigen Strömung der Untersuchungsflüssigkeit wurde ein rotierender Zylinder benutzt, welcher sich innerhalb eines zweiten in Ruhe befindlichen um dieselbe vertikale Achse drehte. Bei der Konstruktion war es wesentlich, daß die ganze Apparatur möglichst ruhig lief. Denn die Halbschattenmethode verlangt einen vollkommen ruhigen Lichtweg. Aus diesem Grund wurde der Aufbau derart vorgenommen, daß der Strahlengang von den mechanischen Teilen unabhängig war. Ferner wurde beim Bau der Rotationskammer auf möglichste Reibungslosigkeit Wert gelegt. Jede Berührung der Fibrinogenlösung mit Metallen mußte sorgfältig vermieden werden, damit der Eiweißkörper nicht denaturierte. Der Innenraum der Rotationskammer wurde mit einem schwarzen Lack überzogen, der sich im Vorversuch als einwandfrei erwiesen hatte, d. h. die Fibrinogenlösung nicht veränderte. Ferner wurde nach R. Signer bei der Konstruktion des unteren Achsenlagers das Prinzip der Taucherglocke benutzt, wodurch jegliche Benetzung der Lagerstelle unmöglich gemacht wurde. Der innere Zylinder hatte eine Höhe von 5,7 cm und einen Radius von 2,7 cm. Der äußere Zylinder war so gebaut, daß er einen Zwischenraum von ca. 3 mm zwischen den beiden Zylindern ließ. Die Achse des inneren Zylinders wurde aus Stahl angefertigt und lag mit ihrem unteren Ende einer Stahlkugel auf. Der Deckel der Kammer besaß außer den Öffnungen zur Einfüllung der Untersuchungsflüssigkeit und zum Durchtritt des parallel zur Rotationsachse gehenden Lichtstrahles eine zentrale Durchbohrung, durch welche die Stahlachse führte. Mittels eines Kugellagers wurde die Reibung der Achse an der Deckelöffnung bei der Rotation stark vermindert. Ein Schleudern

der Seitenwand des Zylinders war im Gesichtsfeld nicht erkennbar. Die Achse besaß an ihrem oberen Ende einen aufgesetzten Gummischlauch mit dicker Wandung, welcher mittels eines metallischen Zwischenstücks an der Achse des Motors befestigt wurde. Die Rotationsgeschwindigkeit dieser Motorachse war damit zugleich die Geschwindigkeit des inneren Zylinders. Die kleinen Tourenzahlen konnte ein Motor nicht in gleichmäßiger Stetigkeit der Umdrehungen erreichen. Es wurde deshalb ein 2. Motor hinzugeschaltet, der eine größere Umdrehungszahl besaß, und dessen Rotation durch Transmission im Verhältnis von ca. 10 : 1 auf den ersten Motor übertragen wurde. Die Umdrehungszahlen wurden mit Hilfe eines Tourenzählers mit variablem Geschwindigkeitsbereich ermittelt. Der Zähler gestattete Ablesungen der Umdrehungszahlen von 20/ Min. bis 24000/Min. Er war mit der Motorachse verbunden, die den inneren Zylinder führte. Der Motor mit Zähler war auf ein starkes Eisengerüst montiert, das frei von Erschütterungen befestigt wurde.

In Anbetracht der Kleinheit der Doppelbrechung mußte die Frage der Verschlußplättchen besonders beachtet werden. Es war nicht schwer, Glasplättchen zu finden, die praktisch frei von Doppelbrechung infolge innerer Spannungen waren. Verschlußplättchen durch Gummi- oder Korkplättchen anzuschrauben, wie es z. B. bei den Polarisationssaccharimetern üblich ist, hat sich nicht bewährt, da durch den ungleichen Druck die Plättchen eine Doppelbrechung erhalten, welche trotz aller Vorsicht immer wieder auftritt. Die Plättchen wurden deshalb mittels Kanadabalsam auf die Verschlußschraube gekittet. Der dadurch erzielte Vorteil ist eine gleichmäßig kreisförmig verteilte Kittmasse und die Verringerung etwaiger Spannungsdoppelbrechung, vor allem aber die Möglichkeit, die Verschlußplatte mit Hilfe der Schraube nach dem Versuch leicht herauszunehmen und zu reinigen. Die benutzten Plättchen hatten keine nachweisbare Doppelbrechung trotz empfindlicher Kontrollmethode ergeben. Etwaige dennoch auftretende Eigenanisotropie bei längerer Benutzung derselben Kittung wäre leicht zu umgehen, indem man die „Hauptschwingungsrichtung" der unerwünschten Doppelbrechung durch Drehen der Schraube mit der Richtung der Nikols zusammenfallen läßt, wodurch die Doppelbrechung bei der Messung nicht mehr in Erscheinung tritt. Will man diese störende Eigenschaft überhaupt aus-

schalten, so kann man leicht die Verschlußplättchen in Xylol ablösen und neu verkitten.

Der Einfluß des Kanadabalsams auf die Denaturierung des Fibrinogens hat sich als unwesentlich ergeben, da bei Verwendung von sehr wenig Xylol die Lösung unverändert bleibt. Xylol allein bringt eine Fibrinogenlösung spontan zur Gerinnung. Die Kittung konnte im vorliegenden Falle lange ohne Erneuerung bleiben.

## 2. Optischer Teil.

a) Meßverfahren. Es wurde zur Messung geringer Doppelbrechung eine Halbschattenmethode benutzt, welche von Szivessy und Dierkesmann (7) (8) entwickelt worden ist. Das Wesentliche der Methode besteht darin, daß man zwischen gekreuzten Nikols eine Halbschattenplatte aus Glimmer einführt, die nur die eine Hälfte des Gesichtsfeldes bedeckt und in ihrer Ebene gedreht werden kann. Außer der Halbschattenplatte befindet sich die zu messende doppelbrechende Schicht mit der Phasendifferenz $\Delta$ zwischen den Nikols. Zur Erläuterung der optischen Meßanordnung diene die Fig. 1. Von einer Bogenlampe L wird das Licht mit Hilfe eines Kondensors K auf ein rechtwinkliges Prisma $P_1$ zwecks Ablenkung um 90° geworfen. (Dieses Prisma ist unabhängig von den mechanischen Teilen der Apparatur montiert, zur Vermeidung von Zittern des Lichtstrahles infolge etwaiger Erschütterungen.) Das Licht durchläuft dann in senkrechter Richtung ein monochromatisches Spektralfilter S (Leitz, Wellenlänge des optischen Schwerpunktes 509 m$\mu$, Katalogzeichen SF 509), darauf den Polarisator $N_1$ und die obere Verschlußplatte der Rotationskammer R, die zu untersuchende Flüssigkeit und die untere Verschlußplatte. Zwischen Rotationskammer und dem Analysator $N_2$ befindet sich die mittels eines Teilkreises in ihrer Ebene drehbare Halbschattenplatte H mit geradliniger Trennungslinie, die das halbe Gesichtsfeld durchzieht. Nach dem Austritt aus der Kammer geht das Licht durch die Glimmerplatte, den Analysator und schließlich über ein weiteres rechtwinkliges Prisma $P_2$ in die Objektivöffnung eines Ablesefernrohrs F. Mit diesem stellt man scharf auf die Trennungs-

linie der Halbschattenplatte ein. Das Prinzip der Meßmethode ist nun folgendes:

Die doppelbrechende Schicht befindet sich mit ihren Hauptschwingungsrichtungen in einem Azimut von 45° zu den Schwingungsrichtungen der gekreuzten Nikols. Auf der einen Hälfte des Gesichtsfeldes erscheint die durch die Doppelbrechung bewirkte Aufhellung. Die andere Hälfte ist bedeckt durch die dünne Glimmerplatte mit bekannter Phasendifferenz $\delta$. Durch Drehen der Glimmerplatte verändert sich die Intensität der von ihr bedeckten Gesichtsfeldhälfte, während die andere Seite in ihrer Helligkeit gleich bleibt. Bei bestimmten Stellungen der Halbschattenplatte werden die Intensitäten der beiden Gesichtsfeldhälften gleich. Die Teilkreiseinstellung für eine solche Lage der Glimmerplatte wird mittels Nonius abgelesen. Beim Drehen um 360° des Teilkreises der Halbschattenplatte ergeben sich unter ganz bestimmten, unten erörterten Voraussetzungen 8 Stellungen, in denen die Intensitäten der beiden Gesichtsfeldhälften gleich sind. Zur Erläuterung diene die Fig. 2. Die Stellungen des Halbschattenteilkreises, bei denen gleiche Helligkeit der Gesichtsfeldhälften besteht, sind durch die Buchstaben $t_1$—$t_4$, bzw. durch $t'_1$—$t'_4$ angedeutet. Aus der Theorie (7) folgt, daß die Winkel $t_1$ $t'_1$ usw. gleich sind. Wir nennen diesen Winkel $\varepsilon$. Die Phasendifferenz der Halbschattenplatte ist $\delta$. Liegt diese zwischen 0 und $\frac{\pi}{4}$, und besteht die Bedingung

$$\delta > 2\Delta$$

so läßt sich die zu untersuchende Doppelbrechung nach folgender Gleichung berechnen, wenn man den Winkel $\varepsilon$ gemessen hat:

$$\operatorname{tg}\Delta = \sin 2\varepsilon \operatorname{tg}\frac{\delta}{2}.$$

b) Anwendung der Methode zur Messung der Str. D.Br. bei Fibrinogen. Der Eiweißkörper hat infolge der Rotation des inneren Zylinders und der dadurch bedingten Strömung die unangenehme Eigenschaft, besonders bei hohen Tourenzahlen Schaum zu bilden, der den Lichtweg stört. Dies wurde dadurch verhindert, daß die Verschlußplatten möglichst weit in die Rotationskammer

ragten, ferner wurde der mit Flüssigkeit gefüllte Innenraum durch einen Kuppelraum erweitert, welcher höher lag als die Ebene des Deckels. Damit war ein einwandfreier Lichtweg möglich, indem durch die Rotation des Innenzylinders die Flüssigkeit gegen den Außenzylinder und etwaige Blasen in den Kuppelraum gedrängt wurden.

In optischer Hinsicht sind folgende Einzelheiten noch erwähnenswert. Die Nikols mußten so eingebaut werden, daß sie sowohl einzeln als auch gekoppelt gedreht werden konnten. Durch eine metallische, brückenartige Verbindung wurde dies erreicht. An den Gerüstsäulen waren Stutzen angebracht, in welchen je ein Metallstab durch Schrauben befestigt werden konnte, der an seinem freien Ende einen aufgesetzten Ring für die Fassung des Analysators bzw. Polarisators trug. Der Ring für den Analysator besaß außerdem einen niedrigen zylinderförmigen, festgelöteten Aufsatz, welcher zur Aufnahme eines Teilkreises für die Halbschattenplatte diente. Letzterer war unabhängig von dem Analysatorteilkreis drehbar. Er wurde noch besonders an der Gerüstsäule befestigt, damit er möglichst kein Schleudern bei der Drehung zeigte. Der Teilkreis für die Halbschattenplatte war mit Noniusablesung versehen und gestattete 1/10 Grad bequem abzulesen. Diese Genauigkeit reichte vollkommen aus, um den Winkel $\varepsilon$ zu ermitteln.

Die benutzte Halbschattenplatte wurde aus Glimmer hergestellt, indem aus einem dicken Stück optisch reinen Materials eine dünne Platte abgespalten wurde. Bei einiger Übung war es möglich, eine Dicke der Platte zu erreichen, welche der Bedingung für die Halbschattenplatte genügte. Im Zweifelsfall würde man Glimmerplättchen von verschiedener Dicke spalten und sie mittels des Babinet'schen Kompensators ausmessen. Die Platte wurde im vorliegenden Fall frei auf ein Diaphragma aufgekittet, um eine etwaige zusätzliche Doppelbrechung der Einbettungsplättchen von vornherein auszuschalten. Wie im Prinzip der Methode ausgeführt wurde, durfte sie nur die halbe Öffnung bedecken. Der Teilkreis hatte eine runde zentrale Durchbohrung von 2,5 cm Durchmesser. In diese paßte der Träger der Glimmerhalbschattenplatte. Sie konnte je nach Bedarf aus dem Strahlengang entfernt werden und umgekehrt. Die Glimmerplatte war durch den Träger für den Babinet'schen Kompensator auszuwechseln,

ferner durch eine weitere Halbschattenplatte zu ersetzen, die als Hilfsplatte zur exakten Nikolkreuzung benutzt wurde, und unter dem Namen „Nakamura"-Platte von der Firma Dr. Steeg und Reuter, Bad Homburg v. d. H. in ausgezeichneter Qualität hergestellt wird. Man schiebt die „Nakamura"-Platte in einem beliebigen Azimut zu den Nikolrichtungen in den Strahlengang und dreht den Analysator so lange, bis gleiche Helligkeit der Halbschattenfelder erreicht ist. Dann sind die Nikols exakt gekreuzt. Die Platte dient also zur Kontrolle vor jeder Messung. Zur Messung einer Doppelbrechung wird man folgendermaßen verfahren: Nachdem die Eiweißlösung in die Rotationskammer eingefüllt worden ist, stellt man die Nikols durch Drehen des Analysators oder Polarisators auf Dunkelheit, oder mit Hilfe der „Nakamura"-Platte auf gleiche Helligkeit. In diesem Fall entfernt man nach der Einstellung die Hilfsplatte, läßt den inneren Zylinder rotieren und dreht die gekoppelten Nikols in eine solche Lage, daß die Aufhellung durch die Doppelbrechung maximal ist. Jetzt wird die Glimmer-Halbschattenplatte eingeführt. Infolge der St. D. Br. ist die unbedeckte Gesichtsfeldhälfte etwas aufgehellt (Adaption an die Dunkelheit ist eine wesentliche Voraussetzung für solche photometrischen Methoden). Durch Drehen des Glimmerplattenteilkreises kann man erreichen, daß die beiden Gesichtsfeldhälften gleich hell erscheinen. Die Stellung $t_1$ wird am Teilkreis abgelesen. Dreht man diesen weiter, so wird die von der Platte bedeckte Gesichtsfeldhälfte dunkler als die andere und bei nochmaligem Weiterdrehen wieder heller und erreicht bald — je nach der Größe der zu messenden Doppelbrechung — wieder dieselbe Helligkeit wie die unverändert gebliebene, durch die Doppelbrechung allein aufgehellte Gesichtsfeldhälfte. Diese Stellung $t'_1$ des Teilkreises wird ebenfalls abgelesen. Die Differenz von $t_1$ und $t'_1$ ergibt den Winkel $\varepsilon$, der zur Berechnung der Phasendifferenz dient. Ändert man die Tourenzahl, so verändert sich die Doppelbrechung der strömenden Flüssigkeit und damit der Winkel $\varepsilon$.

Um das $\Delta$ zu berechnen, benötigt man die Größe der Phasendifferenz der Glimmerhalbschattenplatte. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde sie mit dem Babinet'schen Kompensator gemessen. Besitzt man einen solchen nicht, oder kann man die Glimmerplatte nicht in der geeigneten Dicke herstellen, so läßt sich die Platte

von der Firma Dr. Steeg und Reuter, Bad Homburg v. d. H. beziehen. Die Firma wird für die jeweilig benutzte Wellenlänge des Lichtes die Phasendifferenz der Glimmerhalbschattenplatte bei der Lieferung angeben.

Zur Ausmessung der selbst angefertigten Glimmerplatte verfährt man folgendermaßen: Der Babinet'sche Kompensator wird bei gekreuzten Nikols mit Hilfe eines passenden Trägers in den vorher erwähnten Teilkreis eingesetzt. Man stellt durch Drehen des Babinet auf Dunkelheit ein. Dies ist der Fall, wenn die Schwingungsrichtungen der Babinet-Keile mit denen der Nikols übereinstimmen. Man dreht nun den Kompensatorteilkreis um 45° aus dieser Stellung heraus. Im Gesichtsfeld sieht man dann die bekannten dunklen Streifen als Zeichen der Interferenz des Lichtes, welches die 2 doppelbrechenden Quarzkeile durchdrungen hat. Dreht man an der seitlich angebrachten Trommel des Kompensators, so verschieben sich die Streifen im Gesichtsfeld. Mittels eines Fadenkreuzes kann man dieses genau feststellen. Stellt man das Fadenkreuz auf einen Streifen ein und dreht dann die Trommel so weit, bis ein zweiter Interferenzstreifen das Fadenkreuz erreicht, so entspricht die dazu gehörende Trommeldrehung einer Phasendifferenz von 1 $\lambda$. Diese Eichung des Babinet'schen Kompensators ermöglicht die Ausmessung einer beliebigen doppelbrechenden Schicht, indem man die Verschiebung der Streifen durch Trommeldrehung rückgängig macht, also kompensiert. Da die Eichung in Wellenlängen bekannt ist, läßt sich die gesuchte Doppelbrechung bestimmen und in Teilen von $\lambda$ ausdrücken. Der Babinet'sche Kompensator wurde bei der Benutzung in dieser Arbeit durch eine besondere Form des Fadenkreuzes empfindlich gemacht. Innerhalb des Apparates wurden quer durch die Gesichtsfeldöffnung zwei Haare derart befestigt, daß sie sich bogenförmig in der Mitte fast berührten. Man kann auch die Haare sich etwas überschneidend festkitten. Da besonders bei ausgefiltertem Licht der Interferenzstreifen eine gewisse Breite hat, kann man den Streifen dadurch besser markieren, als es durch eine übliche Kreuzform möglich ist. Die Wellenlängeneichung der Trommel war mit einer Genauigkeit von ca. 0,2% vorzunehmen. In diesem Fall entsprachen einer Wellenlänge 798 Trommelteile. Die benutzte Halbschattenplatte aus Glimmer bewirkte eine Streifenverschiebung, die durch 77 Trommelteile kompensiert wurde.

Das bedeutet 0,096 $\lambda$. Will man die Phasendifferenz in Graden angeben, so berechnet sie sich zu 34,6°. Wir werden also in die Formel für $\frac{\delta}{2}$ 17,3° einzusetzen haben. Dieser Wert wurde mit Hilfe des Babinet'schen Kompensators mit einem mittleren Fehler des Mittels von 1% gemessen.

Ist die Größe der Doppelbrechung der Glimmerhalbschattenplatte einmal bekannt, so ist die Ausmessung einer sehr geringen Doppelbrechung möglich. Bevor die Messungen erläutert werden, sei noch eine Bemerkung über die Eichung des Meßbereiches der Glimmerhalbschattenplatte erlaubt. Es würde sehr zeitraubend sein, wenn man alle Werte für die Doppelbrechung einzeln ausrechnen wollte. Es wurden deshalb für verschiedene $\varepsilon$ (von 0,1° aufwärts) die zugehörigen Werte von $\Delta$ berechnet und in Form einer Eichkurve aufgetragen. Auf diese Weise ließ sich die Str. D.Br. schnell aus der Kurve in $\Delta$ angeben.

## B. Messungsergebnisse.

1. Abhängigkeit der Lage der optischen Ellipse von der Rotationsgeschwindigkeit. G. Boehm hatte schon gefunden, daß die sogenannte Auslöschungsrichtung bei Fibrinogen nicht von der Tourenzahl abhängig ist. Es wird dort ein Winkel von ca. 52° als konstant angegeben. Es konnte nun festgestellt werden, daß eine Änderung mit der Tourenzahl nicht stattfand. Die Genauigkeit reichte zweifellos aus, um dieses eindeutig nachzuweisen. 2. Abhängigkeit der Str. D. Br. von der Umdrehungszahl des inneren Zylinders. Versuch 1. Die Fibrinogenlösung war aus Pferdeoxalatblut hergestellt und nicht dialysiert worden. Sie hatte einen Eiweißgehalt von 1,15%, einen Kochsalzgehalt von 4,0%, der Koagulationspunkt betrug 56°, und die Gerinnungszeit war 20 Sekunden. (Bei Verwendung von 1 ccm einer Mellanbythrombinlösung vom 14. 9. 1936 und 0,5 ccm Fibrinogenlösung.) Die gemessenen Doppelbrechungen lagen zwischen 2° und 10°. Dieser Winkel ist so zu verstehen, daß 360° gleich einer Wellenlänge Phasendif-

ferenz gesetzt wurde. Fig. 3 zeigt die gemessene Kurve. Sie verläuft beim Fibrinogen bei kleinen Touren steil und bei großen fast parallel zur Abszissenachse.

Versuch 2. Dieselbe Lösung wurde 2 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Es wurden die Messungen derart vorgenommen, daß die Tourenzahl zunächst von 50 auf 200 pro Minute verändert und die jeweilige Doppelbrechung bestimmt wurde. Allein durch das Stehenlassen der Lösung ergab sich eine vollkommen andere Kurve als in Fig. 3, nämlich der Kurvenast I der Fig. 4. Die einzelnen Meßwerte zeigen geringe Streuung, die Kurve verläuft fast linear und steil. Die Str. D. Br. ist also spontan innerhalb von 2 Tagen derartig groß geworden, daß die benutzte Halbschattenplatte nicht ausreichte, um die Werte bei den Tourenzahlen 300 bis 500 pro Minute gleich anschließend messen zu können. Es handelt sich hier um Doppelbrechungen von über 1/20 Wellenlänge.

Der Kurvenast II der Fig. 4 ist dadurch entstanden, daß nach wenigen Minuten bei rotierendem Zylinder die Tourenzahlen im absteigenden Sinne geändert wurden. Es zeigte sich das auffallende Ergebnis, daß die den Tourenzahlen entsprechenden Doppelbrechungen bedeutend kleiner geworden waren. Nur bei geringen Touren blieben die Werte für die Doppelbrechungen fast gleich. Darauf wurde der Kurvenast III gemessen, da es von Interesse war, den jetzigen Verlauf der Kurve zwischen den Tourenzahlen 200 und 500 pro Minute zu verfolgen. Die benutzte Glimmerhalbschattenplatte genügte jetzt vollauf zur Messung. Der Kurvenast IV stellt schließlich das Ergebnis bei kleineren Umdrehungszahlen dar. Es zeigte sich, daß nach der für die Messungen erforderlichen Zeit von ca. 20 Minuten ein gewisser Gleichgewichtszustand im micellaren Gefüge erreicht wurde, da die Werte der Kurve III mit den später gemessenen Werten der Kurve IV sich genau zu einer stetigen Gesamtkurve ergänzten. Die Messungen beweisen, daß die Fibrinogenlösung durch einfaches Stehenlassen einen anderen molekularen Zustand angenommen hatte, der sich also mit Hilfe der Str. D. Br. quantitativ nachweisen ließ. Durch die mechanische Bewegung der Flüssigkeit wurde ein ähnlicher Zustand erreicht, wie er bei einer frisch hergestellten Lösung gefunden wurde.

Versuch 3. Um zu sehen, ob bei einer frischen und durch Filtrierpapier

gereinigten Fibrinogenlösung auch die Veränderung der Kurvenlage mit der Zeit der Reaktion auftrat, wurde eine neue nach gleichem Verfahren hergestellte Lösung benutzt. Auch hier wurde die Tourenzahl im aufsteigenden und absteigenden Sinne geändert. Fig. 5 zeigt das Ergebnis. Die als Kreuz gezeichneten Meßwerte liegen zeitlich am frühesten, dann folgen die mit Punkten und schließlich die mit Kreisen angegebenen. Aus den Kurvenzweigen der Fig. 5 ist ersichtlich, daß die drei Meßreihen in ihrem Charakter gleich verlaufen, wenn man die Steigung ins Auge faßt. Zum Kurventeil der Kreise ist zu bemerken, daß die etwas höher liegenden Werte sich dadurch ergaben, daß an einer anderen Stelle des Gesichtsfeldes, d. h. bei einem etwas anderen Gefälle und zwar in der Nähe der inneren Zylinderfläche gemessen wurde. Dies ist eine rein meßmethodische Frage. Die subjektiven Einstellungsfehler auf Halbschatten sind bei dem benutzten Zwischenraum von 3 mm zwischen beiden Zylindern am geringsten, wenn man am Rande des Gesichtsfeldes mißt.

Versuch 4. Die Fig. 6 zeigt das Ergebnis der Messungen bei einer gegen 0,9% dialysierten Lösung. Sie war 4 Tage vor der Untersuchung hergestellt, bei Normaltemperatur aufbewahrt und die 2 letzten Tage gegen 0,9% NaCl dialysiert worden. Eine solche Lösung besitzt bekanntlich eine größere Labilität als vor der Dialyse. Es war eine geringe Trübung eingetreten, sodaß die Lösung nach der Dialyse durch Filtrierpapier gereinigt werden mußte. Der Eiweißgehalt wurde mit 0,52% festgestellt. Die Trombingerinnungszeit betrug 10″. Der Koagulationspunkt war 55,5°. Die Pfeile der Fig. 6 geben die Reihenfolge der zeitlich nacheinander vorgenommenen Messungen wieder. Die Streuung war gering. Anfänglich zeigte die Kurve einen Verlauf, wie er bei den nicht dialysierten Lösungen, die gleich nach der Herstellung untersucht wurden, auftrat, d. h. es ergab sich bei kleineren Tourenzahlen eine stärkere Steigung als bei größeren. Ging man dann wieder mit den Tourenzahlen herunter, so verlief die Kurve innerhalb weiter Tourenbereiche praktisch parallel zur Abszissenachse, um dann bei sehr geringer Umdrehungsgeschwindigkeit plötzlich abzufallen. Diese Tatsache war an dem Halbschattenumschlag sehr deutlich erkennbar und reproduzierbar. Die gemessenen Werte lagen weit außerhalb der durch die Methode bedingten Fehlergrenze. Während der Rotation trat eine geringe Trübung ein, offen-

bar als Zeichen einer Gerinnung. Nach dem Abfiltrieren wurde ein Eiweißgehalt von 0,36% gegenüber 0,52% vor dem Versuch bestimmt. Diese Messungsergebnisse sind insofern von Bedeutung, als es hier möglich war, eine dialysierte Lösung in einem äußerst labilen Zustand zu untersuchen. Die Methode der Str. D. Br. gestattet also Erscheinungen am Fibrinogen zu studieren und zwar in solchen Phasen, welche durch andere Verfahren chemischer und physikalischer Art nicht so genau erfaßt werden können.

Versuch 5. 2 Tage später wurde an der Lösung des Versuches 2 die Str. D. Br. gemessen. Das benutzte Fibrinogen hatte jetzt einen Eiweißgehalt von 0,89% und war noch ausgesprochen fadenziehend. Die Trombingerinnungszeit betrug kurz vor der Benutzung nicht mehr 20″, wie am Tage des Versuches 2, sondern 32″. Die Doppelbrechungskurve zeigte nicht mehr den starken Anstieg wie in Fig. 4, sondern einen Verlauf, wie er auch bei einer frischen Lösung ähnlich gefunden wurde. Zuerst entstanden die Werte der Kurve mit Kreuzchen, dann die mit Punkten und zuletzt die mit punktierten Kreisen. Von geringer Streuung abgesehen liegen die Meßwerte gut in einer Kurve. Bei Veränderung der Tourenzahl im absteigenden Sinn wurden die Anfangswerte nicht wieder erreicht. Zwischen den beiden letzten Kurvenästen der Fig. 7 lag eine Zeit von einigen Minuten, während der eine mittlere Rotationsgeschwindigkeit eingestellt war.

Der Verlauf der Kurven zeigte im Gegensatz zum Versuch 2 eine geringe Änderung der St. D. Br. mit der Zeit der Rotation. Die Lösung befand sich in einem Zustand, der vom Verfasser als ein gewisses Gleichgewicht im molekularen Gefüge angesehen wird.

## Zusammenfassung.

Es wurde die Anwendung des elliptischen Kompensators von Szivessy-Dierkesmann auf die Messung der Strömungsdoppelbrechung insbesondere bei Fibrinogen durchgeführt. Die Messung geschah mit Hilfe eines Rotationsapparates, in dem ein rotierender Zylinder sich innerhalb eines feststehenden befand. Die mitgeteilten Messungen stellen quantitative Eigenschaften von Fibrinogenlösungen dar. Es wurde die Abhängigkeit der Strömungsdoppelbrechung von der Tourenzahl gemessen. Der Einfluß der Rotation war deutlich nachweisbar. Die Messungen zeigen, daß die Apparatur gut in der Lage ist, Einzelheiten an Fibrinogenlösungen zu studieren. Die mitgeteilten Ergebnisse haben vor allem den Zweck, die Brauchbarkeit der Apparatur für systematische Untersuchungen über die Ultrastruktur des Fibrinogenmicells und Veränderungen durch beeinflussende Faktoren zu beweisen.

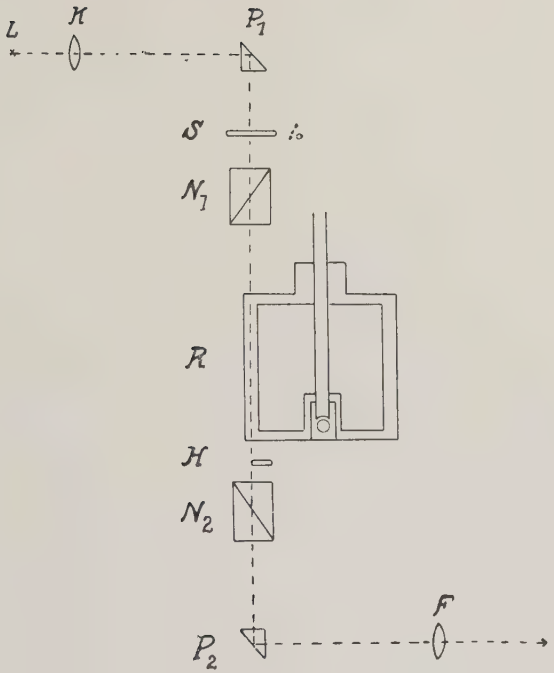


Fig. 1.

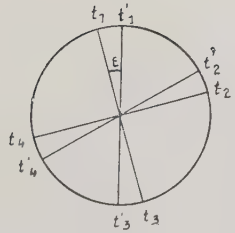


Fig. 2.

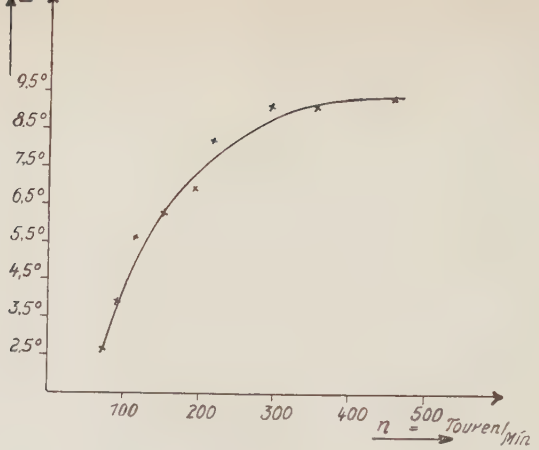


Fig. 3.

Versuch vom 19. 9. 1936.
Doppelbrechung $\Delta$ als Funktion der Tourenzahl n bei einer frischen Lösung von 1,15%igem Pferdefibrinogen und 4,0% NaCl.

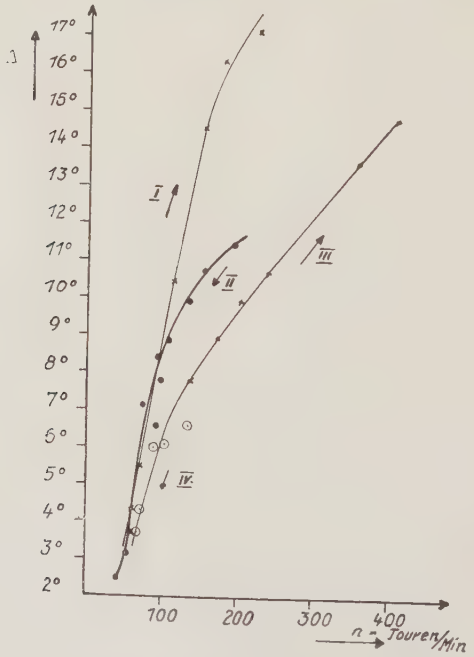


Fig. 4.

Versuch vom 21. 9. 1936.
Doppelbrechung $\Delta$ als Funktion der Tourenzahl n bei einer 2 Tage alten Lösung von 1,15%igem Pferdefibrinogen und 4,0% NaCl.

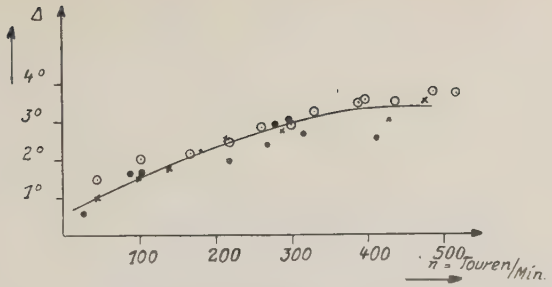


Fig. 5.

Versuch vom 29. 9. 1936.
Doppelbrechung $\Delta$ als Funktion der Tourenzahl n bei einer frischen Lösung von 1,3%igem Pferdefibrinogen und 4,7% NaCl.

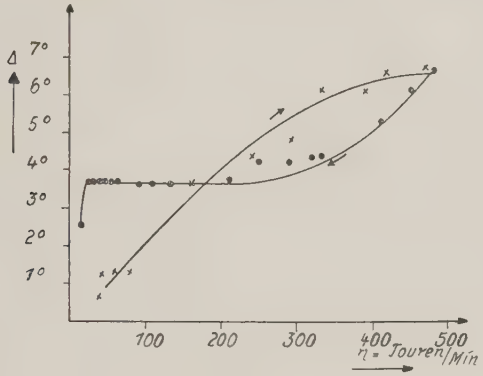


Fig. 6.

Versuch vom 23. 9. 1936.
Doppelbrechung $\Delta$ als Funktion der Tourenzahl n bei einer 4 Tage alten Lösung von 0,52%igem Pferdefibrinogen und 0,9% NaCl.

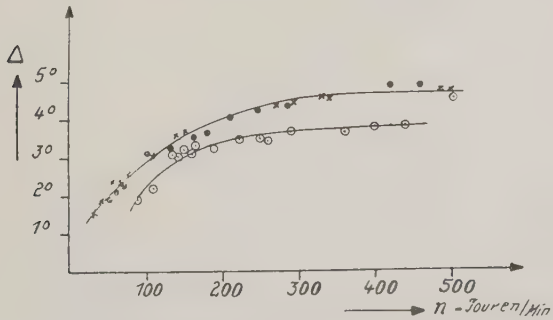


Fig. 7.

Versuch vom 25. 9. 1936.
Doppelbrechung $\Delta$ als Funktion der Tourenzahl n bei einer 6 Tage alten Lösung von 0,89%igem Pferdefibrinogen und 4,7% NaCl.

## Literatur-Verzeichnis.


(1) G. Boehm und R. Signer, Helv. chim. acta **14**. 1370. (1930).

(2) A. L. v. Muralt und J. T. Edsall, J. of. biol. Chem. **89**, 315 (1930) und 351. (1930).

(3) E. Wöhlisch und H. G. Clamann, Zeitschr. f. Biol. **92**. 462 (1932).

(4) G. Boehm, Klin. Wochenschrift 1932. S. 599.

(5) E. Wöhlisch und B. Belonoschkin, Biochem. Z. S. **284**. 353. (1936).

(6) E. Wöhlisch und A. Kiesgen, Biochem. Z. S. **285**. 200. (1936).

(7) G. Szivessy u. A. Dierkesmann, Annal. d. Physik (5). **11**. 949 (1931).
„ „ Z. S. f. Instrkde. **52**. 337 (1932).
„ „ Z. S. f. Krist. **81**. 169 (1932).

(8) G. Szivessy, A. Dierkesmann und Cl. Münster, Z. S. f. Physik **82**. 279 (1933).


---


Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung von Herrn Professor Dr. E. Wöhlisch. Ich danke auch an dieser Stelle Herrn Professor Wöhlisch für seine stetige Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Arbeit. Ferner bin ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Gewährung von Mitteln zu Dank verpflichtet.

## Lebenslauf.

Als Sohn des Rektors Jos. Dierkesmann wurde ich am 4. 5. 1906 zu Iserlohn in Westf. geboren. Ich besuchte dort 4 Jahre die Volksschule und 9 Jahre das Realgymnasium. Ostern 1925 begann ich mit dem Studium der Naturwissenschaften. Im Jahre 1929 promovierte ich als Physiker zum Dr. phil. mit „sehr gut".

Vom 1. Juni 1930 bis 31. August 1932 war ich Assistent am physikalischen Institut der Universität Bonn. Ein Jahr daran anschließend bekleidete ich die planmäßige Assistentenstelle am Institut für angewandte Optik an der Universität Jena.

Darauf studierte ich Medizin. Ich machte das Physikum im S. S. 1934 und das medizinische Staatsexamen im Frühjahr 1937 mit „gut".

Am 1. August 1936 bekam ich eine außerplanmäßige Assistentenstelle am physiologischen Institut der Universität Würzburg.

## Erklärung.

Ich erkläre hiermit ehrenwörtlich, daß ich für die vorliegende Arbeit nur die in der Literaturangabe verzeichneten Hilfsmittel benutzt habe.

Dr. phil. A. Dierkesmann.